

ORIGINAL ARTICLE

The Effect of Drought Stress on some Rapeseed Genotypes under Tissue Culture and Field Conditions

Zeinab Chaghakaboodi^{1*}, Mehdi Kakaei², Alireza Zebarjadi¹, Danial Kahrizi³

¹Department of Plant Production Engineering and Genetics, Campus of Agriculture and Natural Resources, Faculty of agriculture, Razi University, Kermanshah, Iran.

²Department of Agriculture, Faculty of Engineering, Payame Noor University, Tehran-Iran.

³Agriculture Biotechnology Department, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

Correspondence

Zeinab Chaghakaboodi

Email: z.chaghakaboodi@razi.ac.ir

How to cite

Chaghakaboodi, Z., Kakaei, M., Zebarjadi, A., & Kahrizi, D. (2023). The Effect of Drought Stress on some Rapeseed Genotypes under Tissue Culture and Field Conditions. *Crop Biotechnology*, 12(42), 63-77.

ABSTRACT

Rapeseed (*Brassica napus*) is recognized as one of the most important oilseed crops worldwide and its development of cultivation has received attention due to the importance of importing oil. The current study aimed to investigate the effect of drought stress on some Rapeseed genotypes under tissue culture and field conditions and to identify stable genotypes in the field. The possible responses of 14 different canola genotypes to Callus induction resulting from Hypocotyl cultivation and evaluation their drought tolerance were studied using Polyethylene Glycol 6000 (PEG 6000) at five different levels, including zero (as control), 10%, 20%, 30%, and 40% PEG concentrations based on a completely randomized design (CRD) with three replications. Measured traits included relative growth rate, growth rate, relative water content, and proline content of the Callus. Furthermore, in the field sector, the genotypes were investigated in four environments (two consecutive years in 2016-2018 under rainfed and irrigated conditions) based on randomized complete block design with three replications. According to the Callus culture results, the assessed traits, except the Proline content of Callus, decreased with increasing stress level. In laboratory conditions, genotype number seven (Dante) was introduced as the superior genotype. The results of Additive Main effects and Multiplicative Interaction (AMMI) analysis showed the significance of both additive effects of genotype and environment and the multiplicative effect of genotype × environment interaction. The results of cumulative additive effects (decomposition of variance) and multiplicative interaction effects (decomposition into principal components) showed that the first two components explained 53.02 and 33.65% of the variance of the interaction effect for oil yield. Dante and SLM-046 genotypes were introduced as stable genotypes.

KEYWORDS

Callus induction, Biplot, Drought Stress, Callus growth rate, Stability indicators, Rapeseed.

نشریه علمی

زیست فناوری گیاهان زراعی

«مقاله پژوهشی»

بررسی اثر تنش خشکی بر برخی ژنوتیپ‌های کلزا در شرایط کشت بافت و مزرعه

زینب چقاکبودی^{۱*}، مهدی کاکایی^۲، علیرضا زبرجدی^۱، دانیال کهریزی^۳

چکیده

کلزا یکی از مهمترین گیاهان روغنی در جهان است که به دلیل اهمیت واردات روغن توسعه‌ی کشت آن مورد توجه قرار گرفته است. این تحقیق به منظور بررسی اثر تنش خشکی بر ژنوتیپ‌های کلزا در شرایط کشت بافت و مزرعه و نیز شناسایی ژنوتیپ‌های پایدار در مزرعه اجرا گردید. در شرایط آزمایشگاه، واکنش ۱۴ ژنوتیپ مختلف کلزا به القاء کالوس حاصل از کشت هیپوکوتیل و ارزیابی تحمل به خشکی ژنوتیپ‌ها با استفاده از پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ در پنج سطح صفر (بعنوان شاهد)، ۱۰٪، ۲۰٪، ۳۰٪، و ۴۰٪ در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بررسی شد. صفات مورد ارزیابی شامل سرعت رشد نسبی، سرعت رشد، محتوای آب نسبی و محتوای پرولین کالوس بود. در بخش مزرعه، ژنوتیپ‌ها در چهار محیط (دو سال متوالی ۸۷-۱۳۸۶ در شرایط دیم و آبیاری) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج کشت کالوس نشان داد که صفات مورد ارزیابی به غیر از محتوای پرولین کالوس با افزایش سطح تنش کاهش یافتند. در شرایط آزمایشگاه ژنوتیپ شماره‌ی هفت (Dante) به عنوان ژنوتیپ برتر معرفی گردید. نتایج حاصل از تجزیه‌ی AMMI حاکی از معنادار بودن اثرات افزایشی ژنوتیپ و محیط و اثر ضربی ژنوتیپ × محیط بود. نتایج اثرات افزایشی تجمعی (تجزیه واریانس) و اثرات متقابل ضربی (تجزیه به اجزای اصلی) نشان داد که دو مؤلفه‌ی اول ۵۳/۰۲ و ۳۳/۶۵ درصد از واریانس اثر متقابل را برای عملکرد روغن تبیین کردند. ژنوتیپ‌های Dante و SLM-046 بعنوان ژنوتیپ‌های پایدار معرفی گردیدند.

واژه‌های کلیدی

القاء کالوس، بای پلات، تنش خشکی، سرعت رشد کالوس، شاخص‌های پایداری، کلزا

^۱گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران.
^۲گروه علوم کشاورزی، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.
^۳گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

نویسنده مسئول:

زینب چقاکبودی

رایانامه: z.chaghakaboodi@razi.ac.ir

استناد به این مقاله:

چقاکبودی، زینب، کاکایی، مهدی، زبرجدی، علیرضا و کهریزی، دانیال (۱۴۰۲). بررسی اثر تنش خشکی بر برخی ژنوتیپ‌های کلزا در شرایط کشت بافت و مزرعه. فصلنامه علمی زیست فناوری گیاهان زراعی، ۱۲(۴۲)، ۶۳-۷۷

<https://cropbiotech.journals.pnu.ac.ir/>

مقدمه

با توجه به نیاز روزافزون کشور به روغن‌های گیاهی و وابستگی شدید کشور به واردات روغن خوراکی، باید به توسعه و گسترش کشت دانه‌های روغنی مانند کلزا توجه ویژه‌ای شود (کاکایی و همکاران ۲۰۱۳). با توجه به مشکل و محدودیت ناشی از خشکسالی در تولید کلزا، ارزیابی ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی در شرایط محدودیت رطوبتی بسیار ضروری بوده و ثابت در این شرایط بسیار مهم است (کاکایی و همکاران، ۲۰۱۴ و زبرجدی و همکاران ۲۰۱۱). دانه کلزا دارای ۴۰ تا ۴۸ درصد روغن در دانه و ۳۸ تا ۴۵ درصد پروتئین در کنجاله می‌باشد و میزان رطوبت آن حدود ۵ درصد است. نسبت اسیدلینولئیک به اسیدلینولئیک در روغن کلزا تقریباً ۱:۲ می‌باشد که برای مصرف انسان نسبت متعادلی بشمار می‌رود. کنجاله کلزا حاوی ۱۳ درصد فیبر است. وجود مقدار نسبتاً زیاد فیبر در کنجاله یک عامل محدود کننده در استفاده از آن به عنوان خوراک دام محسوب می‌شود زیرا توان تولید انرژی در جیره غذایی را کاهش می‌دهد. پوسته کلزا تقریباً ۱۶/۵ تا ۱۸/۵ درصد وزن خشک دانه را تشکیل می‌دهد و ثابت شده است که رنگ پوست دانه کلزا با ترکیب شیمیایی دانه در ارتباط می‌باشد (شیرانی‌راد و دهشیری، ۱۳۸۱). خشکی یکی از متداول‌ترین تنش‌های محیطی در سرتاسر دنیا است که رشد و تولید گیاهان را از طریق تغییر متابولیسم و تظاهر ژن‌ها تحت تاثیر قرار می‌دهد (لئو پولد، ۱۹۹۰). به نظر مارتین (۱۹۹۳) تنش خشکی در حقیقت کاهش پتانسیل آب خاک است. در کشاورزی خشکسالی عبارت از یک دوره خشکی است که نتیجه آن کاهش عملکرد در حد پایین تر از شرایط مناسب فراهمی آب است (کافی و مهدوی‌دامغانی، ۱۳۸۱). شرایط محیطی خشکی توسط نوسان شدید در بارندگی و مقدار و توزیع آن در بین فصول و درون فصول مشخص می‌شود (آرائوس، ۲۰۰۲). خشکی یک عامل محیطی مهم محدود کننده تولید محصول در دنیا است. کمیاب شدن منابع آب سبب شده است که تکامل ارقام زراعی با سازگاری بهبود یافته به خشکی هدف مهمی در بسیاری برنامه‌های اصلاحی گیاهان می‌شود (سیوامانی و همکاران، ۲۰۰۰). وراثت‌پذیری پایین مقاومت و فقدان استراتژی‌های مؤثر انتخاب مانع تکامل ارقام مقاوم می‌شود. به نظر می‌رسد که نمود نسبی عملکرد ژنوتیپ‌ها در محیط تنش خشکی و محیط‌های مطلوب‌تر، نقطه مشترک شروع شناسایی صفات وابسته به مقاومت به خشکی و انتخاب ژنوتیپ‌ها برای استفاده در اصلاح گیاهان برای محیط‌های خشک باشد (کلارک و همکاران،

۱۹۹۲). در سال‌های اخیر فنون کشت بافت گیاهی به یک ابزار بسیار قدرتمندی جهت تکثیر بسیاری از گونه‌های گیاهی تبدیل شده‌اند. کشت سلول و بافت گیاهی شامل دامنه‌ی وسیعی از روش‌های کشت برای باززایی گیاهان فعال از بافت‌های جنینی، قطعات بافت، کالوس‌ها، سلول‌های ایزوله شده یا پروتوپلاست‌ها می‌گردد. باززایی گیاهچه از طریق کشت بافت نیاز اولیه‌ای برای کاربرد فن‌آوری ژنتیک مولکولی در یک گونه‌ی گیاهی خاص می‌باشد (کهپرزی و همکاران، ۱۳۸۶). امروزه تکنیک‌های کشت بافت گیاهی به عنوان ابزاری ارزشمند جهت ایجاد تنوع ژنتیکی با هدف به‌نژادی گیاهان و همچنین تولید گیاهان عاری از ویروس کاربرد فراوانی دارند (کاکایی و همکاران، ۲۰۲۳). برای کاربرد کامل فناوری ژنتیک مولکولی و متداول شدن آن در یک طرح به‌نژادی، معمولاً روش‌های اختصاصی نیاز است که به ماده ژنتیکی و محیط کشتی که اصلاح کننده با آن کار می‌کند، سازگار باشد (پولمن و اسلیپر، ۱۳۷۸). نوبکورت، ۱۹۳۹ کشت کالوس پایدار را از ریز نمونه ریشه هویج بدست آورد. اوربیک، ۱۹۴۱ شیر نارگیل را به عنوان ترکیب جدید در محیط کشت برای کشت کالوس معرفی نمود. اسکوگ، ۱۹۴۵ تکنیکی را برای کشت بافت از قسمت‌های ایزوله شده توتون توسعه داد (سنگبوش، ۱۹۹۸). گامبورگ و همکاران (۱۹۶۵) اولین کشت سوسپانسیون ازگندم را انجام داد. شیمادا و همکاران (۱۹۶۹) تشکیل کالوس و کشت سلول در گندم را گزارش کردند. لیو و همکاران (۱۹۸۸) القاء کالوس از سنبله‌های جوان، قسمت‌های ساقه و میانگره درگندم را بدست آورد. وانگ و همکاران (۱۹۸۸) تکنیک‌های تشکیل کالوس و باززایی گیاهچه از پروتوپلاست کشت سوسپانسیون گندم نیمه زمستانه را توسعه داد (احسان‌شاه و همکاران، ۲۰۰۳). در آزمایشی که به منظور بررسی اثرات تنش خشکی بر روی کالوس‌های ایجاد شده توسط کشت هیپوکوتیل‌های پنج ژنوتیپ کلزای پاییزه با استفاده از غلظت‌های مختلف اسمزی مانیتول انجام شد نتایج نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار صفات محتوای آب نسبی کالوس، رشد نسبی کالوس و افزایش محتوای پرولین کالوس شد (قاسم پور و همکاران، ۲۰۰۸). در آزمایشی که به منظور بررسی اثرات تنش خشکی بر جوانه‌زنی بذور ۱۵ ژنوتیپ گلرنگ با استفاده از غلظت‌های مختلف اسمزی مانیتول (۰، ۱۸۰، ۳۵۰ و ۵۰۵ میلی مول) انجام شد نتایج نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار در صفات طول ساقچه‌چه، سرعت جوانه‌زنی، شاخص تنش جوانه‌زنی و افزایش طول ریشه‌چه گردید (سهیلی، ۱۳۸۷). انتخاب ژنوتیپ‌ها (از نظر

کرده و همچنین استفاده از این روش امکان بررسی روابط میان محیطها و شناسایی محیطهای هدف در برنامه های به‌نژادی را به سادگی میسر می‌سازد (یان و همکاران ۲۰۰۱). هدف از این تحقیق بررسی سازگاری و پایداری برخی از ژنوتیپ‌های کلزا در شرایط تنش خشکی با استفاده از آزمایش مزرعه‌ای و آزمایشگاهی برای به دست آوردن ژنوتیپ پایدار با بالاترین عملکرد روغن دانه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آزمایش کشت بافت

استریل نمودن نمونه بذری

نمونه‌های بذری ژنوتیپ‌های کلزا از مرکز تحقیقات دیم سرارود کرمانشاه دریافت گردید. چهارده ژنوتیپ کلزا (جدول ۱) به مدت ده دقیقه با هیپوکلرید سدیم ۱/۵ درصد ضد عفونی گردیدند. سپس سه مرتبه هر بار به مدت پنج دقیقه با آب مقطر استریل آبکشی شدند. در نهایت نمونه‌های استریل در زیر هود روی محیط کشت جوانه قرار داده شدند.

جدول ۱. اسامی و منشأ ژنوتیپ‌های مورد استفاده در تحقیق

No.	Genotype and cultivar	Origin	Spring/Autumn
1	Geronimo	Rostica-france	Autumn
2	Celecious	Svalof	Autumn
3	Milena	Germany	Autumn
4	Sahra	Danisco	Autumn
5	Sunday	Danisco	Autumn
6	Zarfam	Iran	Both
7	Dante	Germany	Autumn
8	SLM-046	Germany	Autumn
9	Talaye	Iran	Autumn
10	Talent	Germany	Autumn
11	ARC2	USA	Autumn
12	Opera	Sweden	Autumn
13	ARC5	USA	Spring
14	Licord	Germany	Spring

تهیه محیط کشت

در این مطالعه از محیط کشت MS به عنوان محیط پایه برای کشت استفاده گردید. به منظور تهیه محیط‌های کشت مورد نظر، ابتدا اقدام به تهیه محلول‌های (استوک) مادری نموده و سپس طبق فرمول محیط مورد نظر تهیه گردید. pH محیط کشت با استفاده از NaOH و HCl روی ۵/۸ تنظیم شد. سپس مقدار مناسب آگار (۷ گرم در لیتر) به آن اضافه نموده و به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو گردید. زمانی که دمای محیط کشت به حدود ۵۰-۴۰ درجه سانتی‌گراد رسید محیط کشت در پتری‌دیش‌های ۱۰ سانتی‌متری توزیع شد. بعد از بسته شدن محیط کشت، درب پتری‌دیش‌ها با پارافیلیم‌ها بسته و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شدند.

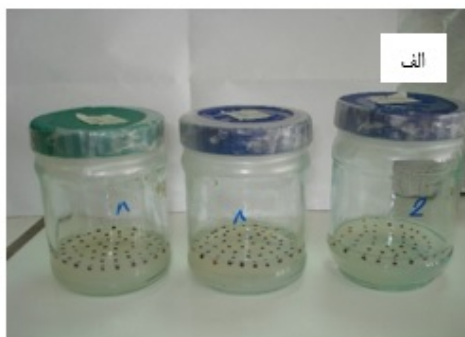
عملکرد) در یک محیط نمی‌تواند معیار مناسبی برای انتخاب باشد. بنابراین ارزیابی ژنوتیپ‌ها باید در محدوده وسیعی از شرایط محیطی (یعنی شرایط محیطی مختلف و چندین ساله) انجام شود تا بتوان با اطلاعات به دست آمده ژنوتیپ یا ژنوتیپ‌های برتر را انتخاب کرد. با بهره‌برداری از پایداری نسبتاً خوب عملکرد روغن در ژنوتیپ‌های کلزا، می‌توان ارقام با عملکرد روغن بالاتر و سازگارتر را شناسایی کرد. کشت و توسعه ارقام با عملکرد روغن بالا و پایداری بیشتر هدف نهایی پرورش دهندگان است (گاوش و زویل، ۱۹۹۶). برای بررسی پایداری، روش‌های چند متغیره مختلفی از جمله تجزیه ارزش منفرد، تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی، تحلیل عاملی، تحلیل خوشه‌ای، تجزیه و تحلیل متمایز، تحلیل الگو، و روش AMMI (اثر اصلی افزایشی و برهمکنش ضربی) پیشنهاد شده‌اند (کراسا، ۱۹۹۰). برای انجام یک آزمایش چند محیطی، معمولاً چندین ژنوتیپ در محیط‌های مختلف (مانند مکان‌ها، سال‌ها و/یا ترکیبی از هر دو) مورد بررسی قرار می‌گیرند، که در نتیجه مناسب‌ترین ژنوتیپ‌ها به محیط‌های خاص توصیه می‌شوند (اولیوتو و همکاران، ۲۰۱۹؛ واعظی و همکاران، ۲۰۱۹). آمار پایداری مبتنی بر AMMI که به طور کامل تعاملات ژنوتیپ به محیط را توصیف می‌کند، به مدل‌های پیچیده یا رویکردهای بیشتری نسبت به ANOVA نیاز دارد. به عنوان یک مدل افزایشی، ANOVA تنها اثرات اصلی را توصیف می‌کند و تعیین می‌نماید که آیا تعامل بین ژنوتیپ و محیط یک منبع ضروری اختلاف است یا خیر. بسیاری از محققین در تجزیه و تحلیل پایداری به روش AMMI در گیاهان دانه‌های روغنی تحقیقاتی داشته‌اند از جمله کوزمانوویچ و همکاران، ۲۰۲۱ که در مطالعه گیاه دانه روغنی کاملینا با استفاده از روش تحلیل پایداری AMMI بیان کردند که روش AMMI در جداسازی و شناسایی چهار لاین بر حسب ثبات و ثبات عملکرد در اروپای جنوب شرقی مؤثر بوده است. در تحقیقی توسط حاج سغایر و همکاران، ۲۰۲۲ تنش خشکی بذر کلزا و جوانه‌زنی آنها را در شرایط مختلف رطوبتی و شرایط اقلیمی مختلف مورد مطالعه قرار دادند. به منظور شناسایی میزان سازگاری لاین‌های جدید با شرایط مختلف محیطی، ارزیابی آنها در قالب آزمایش‌های یکنواختی برای تعیین پایداری عملکرد روغن ژنوتیپ‌ها در مکان‌های متنوع و انتخاب ژنوتیپ‌های پایدار ضروری است (آگاهی و همکاران، ۲۰۲۰). روش GGE بای‌پلات از طریق نمایش گرافیکی اثر متقابل ژنوتیپ × محیط به‌نژادگر کمک می‌کند تا به سادگی پایداری ژنوتیپ‌ها و ترکیب پایداری با عملکرد ژنوتیپ‌ها در محیط‌های مختلف را ارزیابی

محیط جوانه زنی

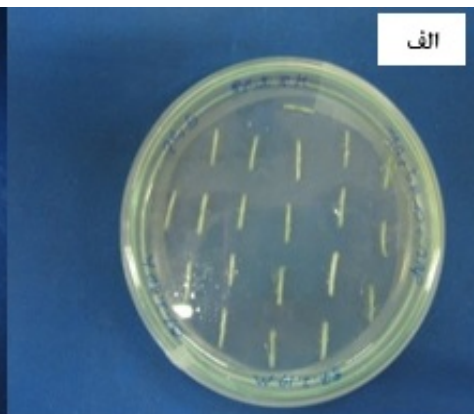
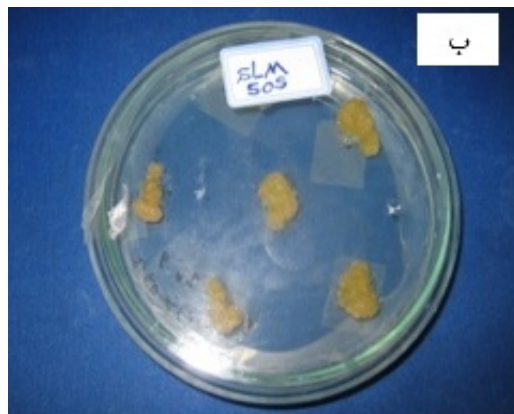
تعداد ۵۰ بذر ضد عفونی شده بر روی محیط MS (موراشیک و اسوک، ۱۹۶۲) حاوی ۳ درصد ساکارز، ۸ درصد آگار و pH برابر ۵/۸ قرار داده شد. بذرها در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد با فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند (شکل ۱-الف و ب). بعد از ۵ الی ۷ روز، ریز نمونه‌های هیپوکوتیل (در حدود یک سانتی‌متر) از گیاهچه‌ها جدا (شکل ۲-ب) و در محیط کشت القاء کالوس قرار داده شدند.

القاء کالوس

محیط القاء کالوس MS با مقادیر ۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA، ۰/۵ میلی گرم در لیتر 2,4-D و ۰/۵ میلی گرم در لیتر BAP (تنظیم کننده‌های رشد گیاهی) و حاوی ۳٪ ساکارز، ۸٪ آگار و pH برابر ۵/۸ بود. نمونه‌ها هر دو هفته یکبار به محیط مشابه واگشت (Subculture) (گردیدند و پس از ۴ هفته کالوس‌ها تشکیل شد (شکل ۲-الف و ب)).



شکل ۱. الف) بذر کشت شده روی محیط کشت MS و ب) گیاهچه‌های ۵-۷ روزه مناسب جهت تهیه ریز نمونه



شکل ۲. الف) هیپوکوتیل‌های کشت شده کلزا در محیط کشت القاء کالوس و ب) کالوس‌های حاصل شده از کشت هیپوکوتیل کلزا

اندازه‌گیری پرولین کالوس

ابتدا از هر نمونه میزان پنجاه میلی گرم کالوس را جدا نموده و به آن ۱/۲ میلی متر اسید سولفو سالیسیلیک سه درصد اضافه نموده، سپس سانتی‌یوفیوژ به مدت ده دقیقه با دور ۱۸۰۰۰ را انجام داده و از محلول رویی ۵۰۰ میکرولیتر با سمپلر برداشته به نمونه حاصل یک میلی لیتر آب مقطر، یک میلی لیتر اسید استیک گلاسیال و یک میلی لیتر معرف نین هیدرین اضافه نموده، و به مدت یک ساعت در بن ماری (حمام آب گرم) ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از زمان مذکور نمونه‌ها را روی یخ گذاشته و پس از اینکه دمای نمونه‌ها به ۲۵ درجه سانتی‌گراد (دمای اتاق) رسید به

صفات اندازه‌گیری شده شامل صفات ذیل بود (الخیری و البحرانی، ۲۰۰۴):

$$\text{سرعت رشد نسبی کالوس (RGR)} = \frac{(\text{وزن اولیه} - \text{وزن نهایی})}{\text{وزن اولیه}} \times 100$$

$$\text{سرعت رشد کالوس (CGR)} = \frac{\text{میانگین قطر کالوس}}{\text{زمان}} \times 100$$

$$\text{محتوای آب نسبی کالوس (RWC)} = \frac{(\text{وزن خشک} - \text{وزن تازه})}{\text{وزن خشک}} \times 100$$

از مدل امی و از مولفه‌های اثر متقابل اول و دوم AMMI (IPCA1, IPCA2) به‌عنوان پارامترهای پایداری برای ژنوتیپ‌ها و محیط‌ها استفاده گردید (آنیسچاریکو ۱۹۹۷). جهت انجام آنالیز داده‌های به‌دست آمده و تفسیر اثر متقابل ژنوتیپ × محیط و تعیین ابر محیط‌ها (Mega-environment) از روش GGE بای‌پلات با استفاده از نرم افزار GENSTA استفاده شد. مدل GGE بای‌پلات بر پایه مقادیر ویژه تفکیک‌پذیر برای دو مولفه اول به‌صورت رابطه (۱) است:

$$Y_{ij} - \mu - \beta_j = \lambda_1 \xi_{i1} \eta_{j1} + \lambda_2 \xi_{i2} \eta_{j2} + \varepsilon_{ij} \quad (1)$$

که در این مدل میانگین Y_{ij} میانگین i امین محیط، μ میانگین کل β_j میانگین اثر محیط j ام، λ_1 و λ_2 مقادیر ویژه برای اولین و دومین مولفه، ξ_{i1} و ξ_{i2} بردارهای ویژه ژنوتیپی، η_{j1} و η_{j2} بردارهای محیطی مولفه اول و دوم و ε_{ij} مقدار باقیمانده برای ژنوتیپ i ام هستند (ریگر و پرابهکر ۲۰۰۱).

تجزیه واریانس صفات آزمایش کشت کالوس با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام شد. مقایسه میانگین اثرات متقابل نیز با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد انجام شد. آنالیز خوشه‌ای مبتنی بر نقشه حرارتی نیز با نرم افزار ClusVis و با استفاده از فاصله اقلیدوسی و روش WARD انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از کشت بافت

نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات مربوطه در محیط کشت کالوس در سطوح مختلف خشکی در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج نشان می‌دهد که بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر صفات محتوای آب نسبی کالوس، سرعت رشد کالوس، رشد نسبی کالوس و محتوای پروتئین کالوس اختلاف بسیار معنی‌داری وجود دارد. بین سطوح مختلف خشکی از نظر این صفات اختلاف بسیار معنی‌داری وجود دارد، همچنین برای صفات مورد بررسی اثر متقابل ژنوتیپ و خشکی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل ژنوتیپ و سطوح مختلف خشکی با آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ در جدول ۳ آورده شده است.

معنی‌دار شدن اثر متقابل ژنوتیپ و خشکی از لحاظ سرعت رشد کالوس و رشد نسبی کالوس حاکی از آن است که هر چند میزان رشد نسبی و سرعت رشد کالوس با افزایش غلظت خشکی

آنها ۲ میلی لیتر تولوئن اضافه نموده و جذب محلول رویی نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید (ارابی و همکاران، ۲۰۰۶).

آزمایش مزرعه‌ای

این پژوهش با تعداد ۱۴ ژنوتیپ کلزای پائیزه در دو سایت خشکی و آبی به طور مجزا در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی کرمانشاه در سال زراعی ۱۳۸۷-۱۳۸۶ اجرا گردید. محل اجرای آزمایش در ۴۶ درجه و ۲۰ دقیقه طول شرقی و ۳۴ درجه و ۲۰ دقیقه عرض شمالی قرار دارد. خاک محل آزمایش دارای بافت سیلتی رسی می‌باشد. قطعات زمین محل آزمایش پس از عملیات زراعی لازم و مصرف کود با توجه به نتایج آزمایش تجزیه خاک مورد استفاده قرار گرفت. هر کرت آزمایشی شامل چهار ردیف به طول چهار متر با فواصل ردیف ۳۰ سانتی‌متر و فاصله بین کرت‌ها ۶۰ سانتی‌متر بود. عملیات کاشت در اواخر شهریور ماه انجام شد. بعد از کشت به منظور رسیدن به سطح سبز یکنواخت در هر دو قطعه آبیاری انجام شد. در مراحل بعدی، در قطعه تحت تنش خشکی آبیاری صورت نگرفت ولی قطعه‌ی دیگر در مراحل گلدهی و نیامده‌ی آبیاری گردید. از چهار ردیف دو ردیف به عنوان اثر حاشیه‌ای حذف و از دو ردیف باقیمانده پنج بوته به تصادف انتخاب و صفات درصد روغن و عملکرد دانه به منظور اندازه‌گیری عملکرد روغن اندازه‌گیری شد.

عملکرد روغن

استخراج روغن نمونه‌های بذری چهارده ژنوتیپ کلزا با استفاده از دستگاه سوکسله در آزمایشگاه گروه مهندسی علوم دام دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی انجام شد. عملکرد روغن بعد از اندازه‌گیری درصد روغن و عملکرد دانه از فرمول زیر محاسبه گردید.
درصد روغن × عملکرد دانه = عملکرد روغن

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه واریانس داده‌های آزمایش کشت بافت با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.2 انجام شد، جهت مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد. تجزیه خوشه‌ای در محیط کشت بافت نیز با نرم افزار R انجام شد. تجزیه امی بر اساس عملکرد روغن در محیط‌های مختلف با استفاده از نرم افزار GENSTA صورت پذیرفت. جهت تجزیه پایداری عملکرد ژنوتیپ‌های مورد بررسی

نظر می‌رسد که ارقام با رشد نسبی کالوس بیشتر از سرعت رشد کالوس بالاتری نیز برخوردار باشند. اما این نکته در مورد برخی ارقام صادق نمی‌باشد. دلیل این مسئله شاید ناشی از این است که معیار سرعت رشد کالوس صفتی کاملاً کمی نمی‌باشد، زیرا از طریق مشاهده و اندازه‌گیری قطر کالوس محاسبه شده و تا حد زیادی مبتنی بر مشاهده و احتمالاً همراه با خطای مشاهده‌ای است.

در محیط کشت کاهش یافته، لیکن روند این کاهش در بین ارقام متفاوت بوده است. در کل، تنوع زیادی که بین ژنوتیپ‌های کلزا از لحاظ سرعت رشد و رشد نسبی کالوس در سطوح مختلف خشکی مشاهده شد، ممکن است مربوط به توانایی متفاوت آنها در جذب رطوبت و جلوگیری از ورود عناصر مضر به داخل سلول باشد، زیرا رشد کالوس تحت تأثیر میزان جذب آب و همچنین ورود یون‌هایی که در غلظت‌های زیاد برای سلول سمی هستند و در محیط کشت وجود دارند، قرار می‌گیرد. این انتظار منطقی به

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده بر روی کالوس تحت تنش خشکی

میانگین مربعات				درجه آزادی	منابع تغییرات
محتوای پرولین کالوس (%)	رشد نسبی کالوس (%)	سرعت رشد کالوس (%)	محتوای آب نسبی کالوس (%)		
۱۶۰۰/۷۱۲**	۱۶۷۲/۸۶۸**	۰/۲۱۵**	۱۵۹۸/۳۵۳**	۱۳	ژنوتیپ
۱۲۵۰۹/۸۰۳**	۲۵۰۹۷/۲۸۷**	۱/۰۱۶**	۱۵۶۳۶/۵۸۱**	۴	سطوح خشکی
۹۲/۴۱۳**	۲۲۸/۴۷۴**	۰/۰۱۱**	۲۵۶/۱۸۴**	۵۲	ژنوتیپ × خشکی
۱/۹۸۴	۰/۶۱۲	۰/۰۰۰۲	۱/۳۷۱	۱۴۰	خطای آزمایشی
۲/۷۶	۲/۱۷	۲/۸۸	۲/۲۹		CV%

** معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد.

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ با آزمون LSD در خشکی در کشت کالوس

ژنوتیپ	خشکی	محتوای پرولین کالوس (میلی گرم / گرم وزن خشک)	رشد نسبی کالوس (درصد)	سرعت رشد کالوس (درصد)	محتوای آب نسبی کالوس (درصد)
Geronimo	.	۹۸/۱۲b	-۵۴/۰۲c	-۱/۲۴de	۳۶/۷۲z
Celecious	.	۱۱۸/۷a	-۷۷/۴۱e	-۱/۲۴de	۵۲/۶۲b
Milena	.	۳۴/۰۲i	-۴/۳۱c	۰/۵۸۹i	۷۴/۷d
Sahra	.	۴۱/۹۱yz	-۲۷/۰۷mn	۰/۳۸۹i	۶۱/۷۱gh
Sunday	.	۵۲/۱۸n-q	-۳۷/۸۱s	۰/۳۹cd	۵۸/۱۲i-l
Zarfam	.	۶۰/۹۲ij	-۵۰/۹۲xy	۰/۲۵۸a	۴۱/۷۱w
Dante	.	۷۲/۵f	۰/۲۲۲۹a	۱/۰۵۹cd	۹۶/۳a
SLM-046	.	۳۴/۰۲i	-۲۶/۳۱m	۰/۲۶fg	۹۲/۴۱b
Talaye	.	۴۳/۲۵w-z	-۲۷/۸۲n	۰/۶۵۲jk	۸۴/۵۲c
Talent	.	۵۱/۲۸o-r	-۶۳/۲۱i	۰/۵۸/t-w	۶۶/۲e
ARC2	.	۶۳/۰۲hi	-۶۸/۰۲c	۰/۴۶i	۵۵/۰۲m-o
Opera	.	۷۷/۲۱e	-۷۶/۸۱e	۰/۳۸i-k	۳۵/۱i
ARC5	.	۲۵/۱b	-۳/۱۷۶c	۰/۵۹i	۵۹/۶۲h-j
Licord	.	۳۷/۳i	-۲۰/۲۱j	۰/۳۹۸i-k	۳۲/۶۲j
Geronimo	-/۱۰	۶۲/۹۸hi	-۶۸/۰۶c	۰/۲۲e	۱۲/۹۴ef
Celecious	-/۱۰	۲۲/۷۲b	-۷/۵۴d-f	۰/۵۹i-k	۳۱/۵۹i
Milena	-/۱۰	۴۵/۰۲u-y	-۱۴/۱۸h	۰/۳۸i	۵۲/۷۱o-q
Sahra	-/۱۰	۵۸/۶۱jk	-۲۶/۲۷m	۰/۳۱ab	۳۲/۱۸i
Sunday	-/۱۰	۶۸/۷۱g	-۵۴/۹۱i	۰/۲۸abc	۱۴/۰۱de
Zarfam	-/۱۰	۹۲/۴۶c	-۶۱/۵i	۰/۲۷cd	۱۰/۹۲f
Dante	-/۱۰	۴۵/۵۸t-x	-۱۹/۸۴j	۰/۶۹ode	۵۶/۸۷j-m
SLM-046	-/۱۰	۵۶/۲۵k-m	-۲۱/۹۶k	۰/۴۶۵t-w	۵۵/۵۱-l-n
Talaye	-/۱۰	۵۶/۲۲k-m	-۴۱/۶۴u	۰/۵۰۷n-s	۳۷/۸۲yz
Talent	-/۱۰	۵۵/۸۷i	-۲۳/۵i	۰/۵۵۶k-m	۴۵/۹۲uv
ARC2	-/۱۰	۳۹/۰۸yz	-۳۴/۶۳q	۰/۶۵۲fg	۵۸/۲۵i-l
Opera	-/۱۰	۴۱/۷۲t-t	-۴۵/۱w	۰/۴۵۵u-x	۵۶/۳۹k-m
ARC5	-/۱۰	۴۸/۶۸v-z	-۴۹/۷x	۰/۶۳۳gh	۳۴/۴i

ادامه جدول ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ با آزمون LSD در خشکی در کشت کالوس

ژنوتیپ	خشکی	محتوای پرولین کالوس (میلی گرم / گرم وزن خشک)	رشد نسبی کالوس (درصد)	سرعت رشد کالوس (درصد)	محتوای آب نسبی کالوس (درصد)
Licord	۰/۱۰	۴۳/۵۲p-s	-۴۹/۶۵x	۰/۵۰۲n-s	۵۱/۷۷p-r
Geronimo	۰/۲۰	۴۹/۸۸d	-۲۷/۷۸n	۰/۵۱۳n-q	۵۸/۴۲i-k
Celecious	۰/۲۰	۸۳/۳۶n-q	-۳۴/۲۶q	۰/۴۱۶yz	۵۳/۲۱i-k
Milena	۰/۲۰	۵۲/۲۹m-p	-۳۷/۱rs	۰/۳۸۱i	۶۶/۶۶n-p
Sahra	۰/۲۰	۵۳/۲۱t-w	-۵۲/۶۹z	۰/۶۲۳g-i	۳۱/۶۱e
Sunday	۰/۲۰	۴۵/۷۱kl	-۴۴/۴۱vw	۰/۳۳۶a	۴۱/۴۸i
Zarfam	۰/۲۰	۵۶/۸۵d	-۳۲/۷۷p	۰/۳۵۸m	۳۰/۲۳wx
Dante	۰/۲۰	۰/۳۶۳7z	-۰/۲۰۲a	۰/۰۰۳af	۶۰/۷۹g
SLM-046	۰/۲۰	۴۰/۸۹q-s	-۱۹/۵۹j	۰/۵۷۳jk	۵۲/۰۹g-i
Talaye	۰/۲۰	۴۹/۷	-۳۶/۲۸r	۰/۴۸۶q-u	۵۲/۰۹p-r
Talent	۰/۲۰	۶۰/۰۹f	-۵۱/۱y	۰/۴۱۶yz	۳۸/۰۱yz
ARC2	۰/۲۰	۷۳/۰۶d	-۶۴/۷۲a	۰/۳۶۳y	۲۹/۶۸a
Opera	۰/۲۰	۰/۲۰۳i	-۸۱/۶۴v	۰/۰۰۲۱f	۰/۱۶۹g
ARC5	۰/۲۰	۳۹/۰۶z	-۶/۷۳vd	۰/۷۱۹cd	۶۳/۳۲fg
Licord	۰/۲۰	۴۱/۲۸i	-۱۸/۲۸	۰/۶۳gh	۵۸/۸۴-k
Geronimo	۰/۳۰	۳۸/۳۸i	-۸/۶۱۷f	۰/۵۵۴k-m	۷۴/۳۱d
Celecious	۰/۳۰	۴۳/۰۷w-z	-۱۲/۰۶g	۰/۵۲۴m-p	۵۷/۲-m
Milena	۰/۳۰	۵۲/۳n-q	-۱۷/۷۳i	۰/۴۹۵o-t	۵۵/۵۳l-n
Sahra	۰/۳۰	۶۴/۶۵h	-۳۰/۷o	۰/۴۰۳z	۴۹/۴۶r-t
Sunday	۰/۳۰	۸۲/۸۵d	-۴۰/۷tu	۰/۳۵۲i	۴۰/۹۸wx
Zarfam	۰/۳۰	۴۲/۲۲x-z	-۱۵/۰۵h	۰/۶۸ef	۶۲/۷۳g
Dante	۰/۳۰	۴۷/۴۴s-u	-۳۶/۷rs	۰/۵۶kl	4۴۹/۴۶r-t
SLM-046	۰/۳۰	۵۴/۲۸l-o	-۴۴/۶۴w	۰/۴۷۳s-v	۴۱/۱۶wx
Talaye	۰/۳۰	۶۵/۳۲h	-۵۰/۵۵xy	۰/۴۴۳v-y	۱۹/۶۳c
Talent	۰/۳۰	۷۱/۸۵f	-۶۱/۲۷i	۰/۳۸i	۶۱/۱۱d
ARC2	۰/۳۰	۳۸/۲۹i	-۳/۴۴c	۰/۶۵fg	۵۴/۴۷m-p
Opera	۰/۳۰	۴۲/۰۳yz	-۴/۳۶c	۰/۶۰۸h-j	۴۹/۵۴r-t
ARC5	۰/۳۰	۵۱/۸۶o-r	-۲۱/۷۸k	۰/۵۳۶l-n	۴۸/۰۶s-u
Licord	۰/۳۰	۶۲/۸۴hi	-۳۶/۰۹r	۰/۵۱n-r	۴۲/۲۶w
Geronimo	۰/۴۰	۲۸/۵۴a	-۸/۱۵ef	۰/۷۱۶cd	۷۴/۱d
Celecious	۰/۴۰	۳۷/۵۸i	-۳۲/۶۹p	۰/۵۹j-k	۴۶/۵۹uv
Milena	۰/۴۰	۴۸/۹۴q-t	-۶۰/۰۱i	۰/۵۳l-o	۴۰/۱۲w-y
Sahra	۰/۴۰	۶۲/۹۵hi	-۶۵/۱۴ab	۰/۴۹p-v	۳۸/۲۵yz
Sunday	۰/۴۰	۲۳/۷۵b	-۱/۸۳b	۰/۷۰۲de	۶۵/۶۴ef
Zarfam	۰/۴۰	۳۸/۰۲i	-۳۷/۱۵rs	۰/۴۳۶v-z	۶۰/۷۵g-i
Dante	۰/۴۰	۴۲/۴۷w-z	-۵۳/۵۲i	۰/۴۱yz	۵۸/۵۱i-k
SLM-046	۰/۴۰	۴۸/۵۸r-t	-۵۹/۹۱i	۰/۳۸i	۵۰/۵q-s
Talaye	۰/۴۰	۵۵/۸۱k-m	-۷۳/۰۸d	۰/۳۴i	۴۶/۹۹t-v
Talent	۰/۴۰	۴۱/۱۹z	-۱/۱۹b	۰/۹۵b	۴۱/۵۴w
ARC2	۰/۴۰	۴۱/۳۳z	-۴۳/۱۵v	۰/۷۲۶cd	۳۸/۷۱x-z
Opera	۰/۴۰	۴۵/۱u-y	-۵۸/۶۷i	۰/۷۳۳g-i	۳۵/۱۴i
ARC5	۰/۴۰	۵۵/۲۴k-n	-۶۲/۰۵i	۰/۴۶۶t-w	۳۱/۲۲i
Licord	۰/۴۰	۶۰/۵۵ij	-۸۳/۵۳f	۰/۳۹۳i	۲۵/۴b

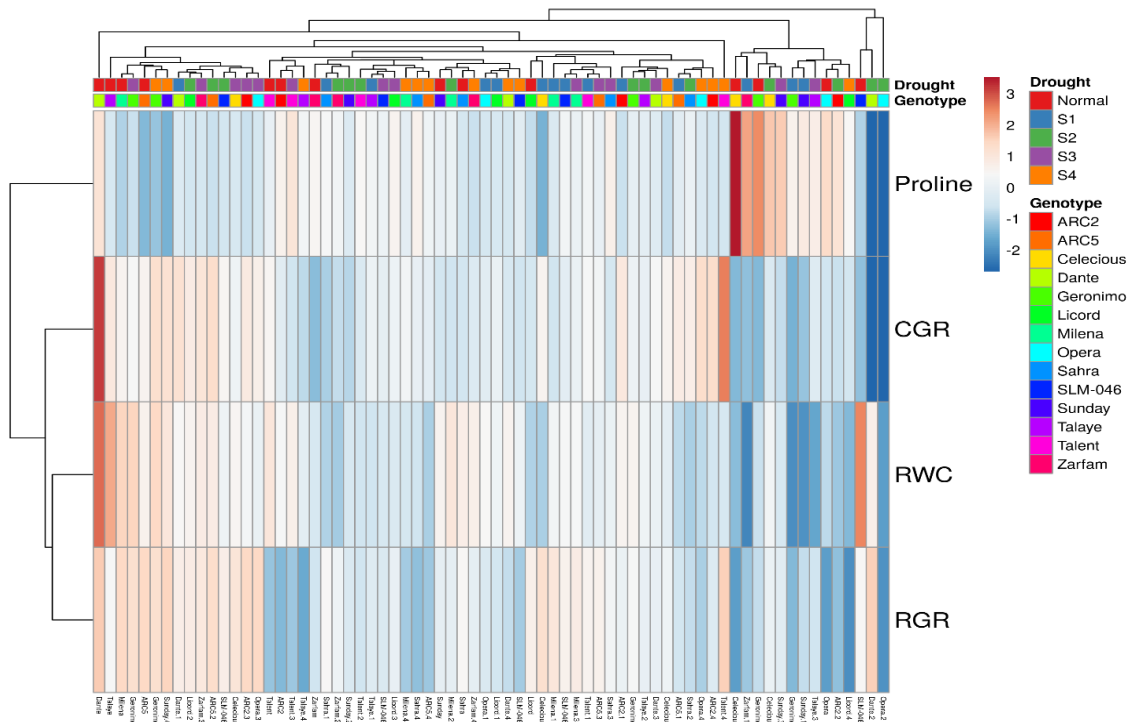
تجزیه خوشه‌ای بر اساس کشت بافت

نتایج آنالیز خوشه‌ای همراه با نقشه حرارتی (شکل ۳) نشان داد که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس سطوح مختلف تنش در دو گروه مجزا قرار گرفتند. بطوری که ژنوتیپ‌های 'opera' و Dante و

SLM-046 در یک گروه قرار گرفتند و مابقی ژنوتیپ‌ها در گروه دوم قرار گرفتند. ژنوتیپ‌های Dante و SLM-046 بر اساس پارامترهای پایداری (جدول ۳) نیز جزو ژنوتیپ‌های پایدار می‌باشند. محتوای آب نسبی کالوس با افزایش سطح خشکی

دوروم به سطوح مختلف تنش خشکی نتایج نشان داد که با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول در محیط کشت، از مقادیر رشد نسبی کالوس و محتوای آب نسبی کالوس کاسته شد (لوتس و همکاران، ۲۰۰۴). در مطالعه کالوس‌های نخل روغنی به سطوح مختلف تنش خشکی نشان داد که با افزایش سطوح تنش از میزان محتوای آب نسبی کالوس و رشد نسبی کالوس کاسته می‌شود ولی مقدار پرولین کالوس با افزایش سطح تنش افزایش می‌یابد (الخیری و البحرانی، ۲۰۰۴). در مطالعه بر روی کالوس‌های به دست آمده از نیشکر در سطوح مختلف تنش خشکی نتایج بدست آمده نشان داد که محتوای آب نسبی و رشد نسبی کالوس در سطوح بالای تنش خشکی کاهش می‌یابد ولی محتوای پرولین کالوس با افزایش تنش افزایش می‌یابد (ارابی و همکاران، ۲۰۰۶).

کاهش یافت و ژنوتیپ شماره ۷ از محتوای آب نسبی کالوس بالاتری (۳۰/۹۶ درصد) در سطح شاهد برخوردار بود. سرعت رشد کالوس با افزایش سطح خشکی کاهش یافت و ژنوتیپ شماره ۷ بیشترین سرعت رشد کالوس (۱/۰۵۹) را در سطوح مختلف خشکی نشان داد. رشد نسبی کالوس با افزایش سطح خشکی کاهش یافت و ژنوتیپ شماره ۷ رشد نسبی کالوس بالاتری (۰/۱۱۳۹) را نشان داد. در مورد صفت پرولین کالوس، با افزایش سطوح خشکی روند صعودی مشاهده شد. همانطور که در شکل ۴ نشان داده شده است افزایش محتوای پرولین کالوس با افزایش سطح تنش بر اساس شدت رنگ مشخص است (شکل ۴) و ژنوتیپ شماره ۴ دارای بالاترین (۱۱۸/۷) میزان پرولین کالوس در بالاترین سطح خشکی (۴۰٪) بود. در مطالعه کالوس‌های گندم



شکل ۳. آنالیز خوشه‌ای همراه با نقشه حرارتی ژنوتیپ‌های کلزا بر اساس صفات اندازه‌گیری شده کالوس: Normal: سطح بدون تنش، S1: سطح تنش ۱۰٪، S2: سطح تنش ۲۰٪، S3: سطح تنش ۳۰٪ و S4: سطح تنش ۴۰٪.



شکل ۴. افزایش محتوای پرولین بر اساس شدت رنگ

نشان دهنده اثر متقابل معنی‌دار برای ژنوتیپ‌ها در مکان‌های مختلف محیطی بود. وجود تنوع بالا در بین ژنوتیپ‌ها و محیط‌های مختلف امکان ارزیابی پایداری ژنوتیپ‌ها یا ژنوتیپ‌های برتر را فراهم می‌کند. تنوع بالا در برنامه‌های اصلاحی لازم و انتخاب ژنوتیپ‌های پایدار امکان‌پذیر است. نتایج اثرات افزایشی تجمی (تجزیه واریانس) و اثرات متقابل ضربی (تجزیه به اجزای اصلی) نشان داد که دو مولفه اول $53/02$ و $33/65$ درصد از واریانس اثر متقابل را برای روغن عملکرد تبیین کردند. بر اساس مطالعات انجام شده، دو جزء اثر متقابل ژنوتیپ \times محیط باید حداقل 60 درصد از تغییرات اثر متقابل را توجیه کند تا بتوان بر اساس آن ژنوتیپ‌های پایدار را شناسایی کرد (یانگ و همکاران، 2009). بر اساس شکل ۵، دو پلات میانگین عملکرد ژنوتیپ‌ها در برابر مقادیر IPCA1، ژنوتیپ‌های Dante و SLM-046 دارای مقادیر IPCA1 نزدیک به صفر بوده و از ثبات عملکردی و سازگاری عمومی خوبی برخوردار بودند، در حالی که ژنوتیپ‌های ARC5 دارای بالاترین مقادیر منفی IPCA1 و به عنوان ژنوتیپ ناپایدار شناسایی شد. بای پلات میانگین عملکرد ژنوتیپ‌ها در برابر مقادیر IPCA2 (شکل ۶) نشان داد که ژنوتیپ‌های SLM-046 و Talent دارای مقادیر IPCA2 نزدیک به صفر بودند، ژنوتیپ‌هایی که عملکرد کمتری دارند اما دارای مقادیر مثبت برای مولفه‌های اصلی اثر متقابل هستند، در محیط‌های فقیر مناسب هستند، به عبارت دیگر، اثر متقابل مثبتی با مناطق فقیر دارند (چقاكبودی و همکاران، 2021).

جدول ۵. تجزیه واریانس مرکب برای عملکرد روغن در شرایط دیم و آبی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
مکان	۳	0.641717^{**}
خطای اول	۱۳	0.87377^{**}
ژنوتیپ	۱۳	$28724/6^{**}$
ژنوتیپ \times مکان	۳۹	$29493/7^{**}$
خطای دوم	۲۶	$552/08^{ns}$
کل	۵۵	

ns، * و ** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد.

شکل ۵ یک بای پلات از میانگین عملکرد روغن ژنوتیپ‌ها در مقابل IPCA1 را نشان می‌دهد و همچنین شکل ۶ را نشان می‌دهد که یک بای پلات از دو جزء IPCA1 و IPCA2 است. به گفته ابره‌ه‌ارت و راسل (1966)، ژنوتیپی دارای یک شیب واحد، مقدار کمی در انحراف از رگرسیون ($S2di$) و مقادیر عملکرد بالا در مکان‌های مختلف به عنوان پایدار شناخته می‌شود. نتایج

تجزیه همبستگی صفات اندازه‌گیری شده در کشت بافت

نتایج تجزیه همبستگی صفات مورد مطالعه در آزمون کشت کالوس بر اساس ضرایب پیرسون در جدول ۳ ارائه شده است. بین صفات محتوای آب نسبی کالوس و رشد نسبی کالوس (0.70^{**}) همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد مشاهده شد. همچنین بین صفات سرعت رشد کالوس و رشد نسبی کالوس (0.85^{**}) همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح یک درصد وجود دارد. هر چه رشد نسبی کالوس بیشتر باشد سرعت رشد هم بیشتر می‌شود. نتایج به دست آمده با نتایج سهیلی (1387) و قاسم‌پور و همکاران (2008) مطابق بود.

جدول ۴. همبستگی صفات مورد مطالعه در کشت بافت

	(۱)	(۲)	(۳)	(۴)
محتوای آب نسبی کالوس (۱)	۱			
سرعت رشد کالوس (۲)	0.401	۱		
رشد نسبی کالوس (۳)	0.70^{**}	0.85^{**}	۱	
محتوای پروتئین کالوس (۴)	0.15	-0.344	-0.167	۱

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

نتایج آزمایش مزرعه

نتایج تجزیه واریانس مرکب (جدول ۵) حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار برای ژنوتیپ، محیط و اثرات متقابل ژنوتیپ و محیط برای عملکرد روغن بود. از آنجایی که کلزا محصولی است که سازگاری محیطی وسیعی دارد، نتایج کنونی ممکن است به برنامه‌های اصلاحی آبی برای استقرار ارقام با قدرت عملکرد بالاتر، محتوای روغن دانه بیشتر و سازگاری بهتر با شرایط مختلف محیطی کمک کند. تحقیقات مشابهی در مورد سازگاری و پایداری عملکرد دانه با استفاده از روش‌های مختلف پایداری در کلزا انجام شده است. در مطالعه 19 ژنوتیپ کلزا در مدت 7 سال با کمک مدل AMMI، ژنوتیپ‌های با پتانسیل ژنتیکی پرمحصول با فصول دارای شرایط رشد ایده آل همبستگی مثبت داشتند، در حالی که ژنوتیپ‌های با مقادیر کم با سال‌هایی که شرایط نامطلوب داشتند مرتبط بودند (جروملا و همکاران، 2011). آنها همچنین گفتند که عملکرد دانه در بوته به شدت تحت تأثیر عوامل محیطی است که نشان دهنده سازگاری ژنوتیپ‌های خاص با فصول خاص است. در مطالعه ما، عملکرد روغن در شرایط تنش خشکی کاهش یافت.

نتایج تجزیه واریانس AMMI (جدول ۵) نیز وجود تنوع بالایی را در از لحاظ عملکرد روغن بین ژنوتیپ‌ها نشان داد که

جدول ۷. پارامترهای پایداری برای عملکرد روغن در ژنوتیپ‌های کلزا

شماره	ژنوتیپ	عملکرد روغن (kg/ha)	CVi	bi	S2di	Wi
۱	Geronimo	۱۳۹/۳۸	۱۵/۵۸	-۰/۶۹	۱۴۶/۶۳	۸۷/۷۹
۲	Celecious	۱۴۰/۵۸	۳۰/۲۹	۱/۴۲	۳۵۳/۰۰	۷۹/۴۰
۳	Milena	۱۱۲/۵۳	۱۷/۱۱	-۰/۶۱	۱۰۹/۸۲	۷۰/۶۲
۴	Sahra	۱۴۲/۳۷	۱۱/۸۴	-۰/۵۲	۹۷/۴۳	۸۶/۵۸
۵	Sunday	۱۲۱/۵۵	۲۹/۰۱	۱/۲۳	۸۷/۱۷	۷۳/۸۱
۶	Zarfam	۱۳۵/۵۸	۱۳/۲۸	-۰/۵۴	۱۳۲/۴۸	۸۲/۷۳
۷	Dnate	۱۴۵/۷۷	۲۱/۸۱	۱/۱۳	۳/۶۸	۱۰۳/۴۶
۸	SLM-046	۱۵۸/۲۱	۱۵/۳۶	-۰/۸۶	۱۱/۵۷	۱۰۶/۷۴
۹	Talaye	۱۲۹/۰۱۴	۳۰/۲۳	۱/۳۹	۱۶/۶۹	۷۷/۷۵
۱۰	Talent	۱۳۵/۴۲	۳۵/۰۱	۱/۷	۸/۶۹	۷۳/۲۵
۱۱	ARC2	۱۲۱/۷۱	۲۹/۵۵	۱/۲۳	۱۵۶/۲۵	۶۹/۹۱
۱۲	Oprea	۱۴۱/۵۸	۲۴/۵۰	۱/۱۳	۳۰۹/۸۱	۸۸/۱۳
۱۳	ARC5	۱۴۰/۵۳	۶/۶۴	-۰/۲۵	۴۸/۹۹	۷۸/۱۸
۱۴	Licord	۱۲۷/۹۳	۲۸/۴۵	۱/۲۶	۱۳۴/۳۴	۷۸/۱۲

CVi: ضریب تغییرات محیطی، bi: ضریب رگرسیون، S2di: انحراف از رگرسیون، Wi: اکووالانس ری

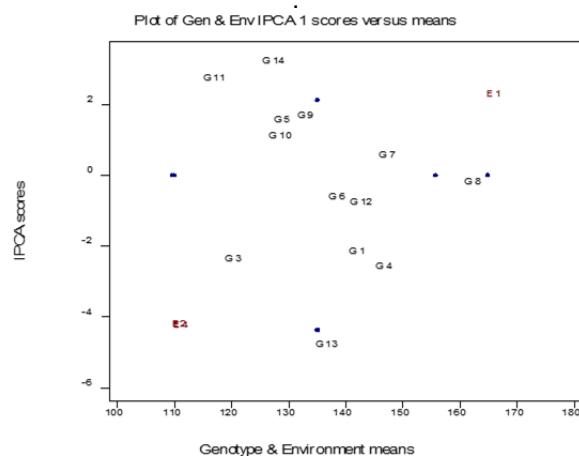
نمایش چند ضلعی حاصل از تجزیه و تحلیل GGE ژنوتیپ‌های *Brassica napus* در چهار محیط در شکل ۶ نشان داده شده است. در این نمودار، ژنوتیپ‌ها و محیط‌ها بر اساس مقادیر مؤلفه‌های اصلی اول و دوم مشخص شده‌اند. آنهایی که به مبدأ مختصات نزدیک هستند (نزدیک به صفر) از نظر مقادیر اولین و دومین مؤلفه اصلی کمترین اثر متقابل را دارند. این نمودار (مؤلفه‌های اصلی اول و دوم اثر متقابل) ۸۶/۶۷ درصد از واریانس اثر متقابل ژنوتیپ و محیط را توجیه می‌کند. در این نمودار ژنوتیپ‌هایی که در مجاورت یک مکان قرار دارند با آن محیط سازگاری خصوصی دارند و ژنوتیپ‌هایی که در نزدیکی مبدأ مختصات قرار دارند سازگاری عمومی دارند. در این تحقیق ژنوتیپ شماره ۶ (زرغام) نزدیکترین ژنوتیپ به مبدأ مختصات بود و به عنوان پایدارترین ژنوتیپ شناسایی شد (استواناتو و همکاران، ۲۰۱۵).

خط موربی که از مرکز دو پلات و نقطه ایده‌آل (که نماینده متوسط ضرایب دو مؤلفه اول اثر متقابل در مدل GGE بای‌پلات است) می‌گذرد، خط هماهنگی محیط متوسط نامیده می‌شود. ژنوتیپ‌هایی که در این خط به مرکز دایره نزدیکتر هستند عملکرد بیشتری دارند. خطی که بر خط متوسط تابع محیطی عمود است و از مرکز دو پلات می‌گذرد، معیار سنجش پایداری ژنوتیپ‌ها است. هر چه ژنوتیپ‌ها بیشتر از این خط فاصله داشته باشند، نقش بیشتری در برهمکنش خواهند داشت و پایداری کمتری خواهند داشت. در این مطالعه دو ژنوتیپ SLM-046 و ARC5 دارای میانگین عملکرد روغن بالاتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها بودند، اما به دلیل فاصله از خط ACE به عنوان یکی از ژنوتیپ‌های با پایداری پایین شناخته شدند (شکل ۷).

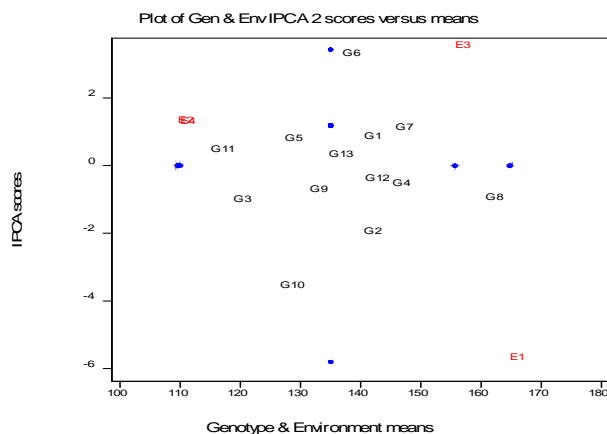
پارامترهای پایداری (جدول ۷) نشان داد که ضرایب رگرسیون برای صفت عملکرد روغن از ۰/۲۵ تا ۱/۷ متغیر بود. ژنوتیپ Dante و SLM046 با S2di پایین و ضریب رگرسیون ($bi > 1$) پایین دارای عملکرد روغن مطلوب و ژنوتیپ Talye با ضریب S2di پایین و ضریب رگرسیون ($bi > 1$) کمترین میانگین عملکرد را داشتند. ژنوتیپ‌های Geronimo و Zarfam با S2di پایین، ضریب رگرسیون ($bi \sim 1$) و میانگین عملکرد، با سازگاری عمومی نسبتاً ضعیف برای شرایط آبی و دیم پایدار بودند (چقاکودی و همکاران، ۲۰۲۱).

جدول ۸. تجزیه AMMI بر اساس عملکرد روغن کلزا

منابع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات
ژنوتیپ	۱۳	۱۱۶/۸۷	۸/۹۹**
محیط	۳	۷۹۴/۷	۲۶۴/۹**
ژنوتیپ × مکان	۳۹	۱۱۵۰۲۵۴/۳	۲۹۴۹۳/۷**
IPCA1	۱۵	۱۶۲/۷۵	۱۰/۸۵**
IPCA2	۱۳	۸۸/۴	۶/۸۰**
IPCA3	۱۱	۱۶/۶۱	۱/۵۱ ^{ns}



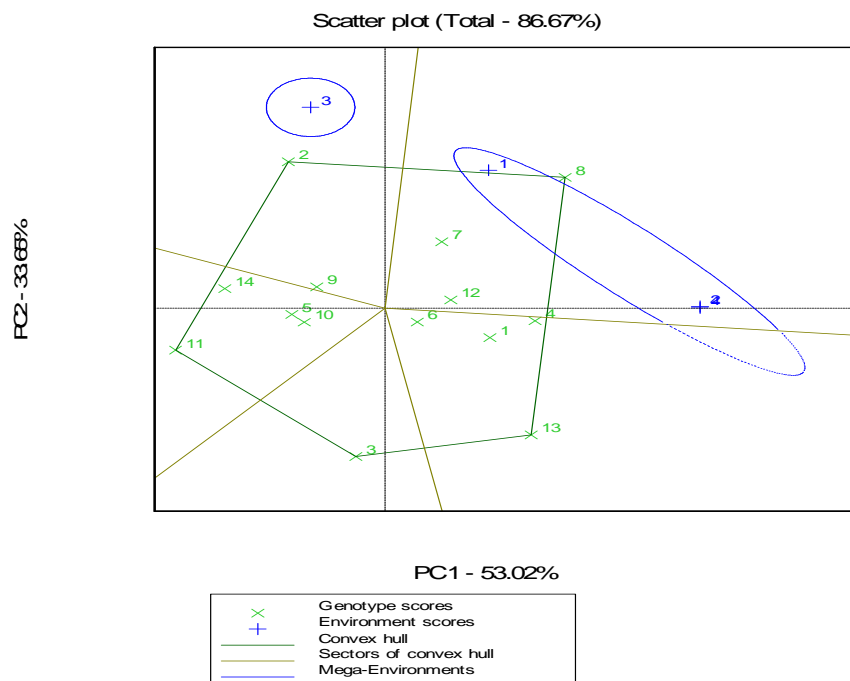
شکل ۵. بای‌پلات متوسط عملکرد روغن ژنوتیپ‌ها در مقابل مقادیر IPCA1



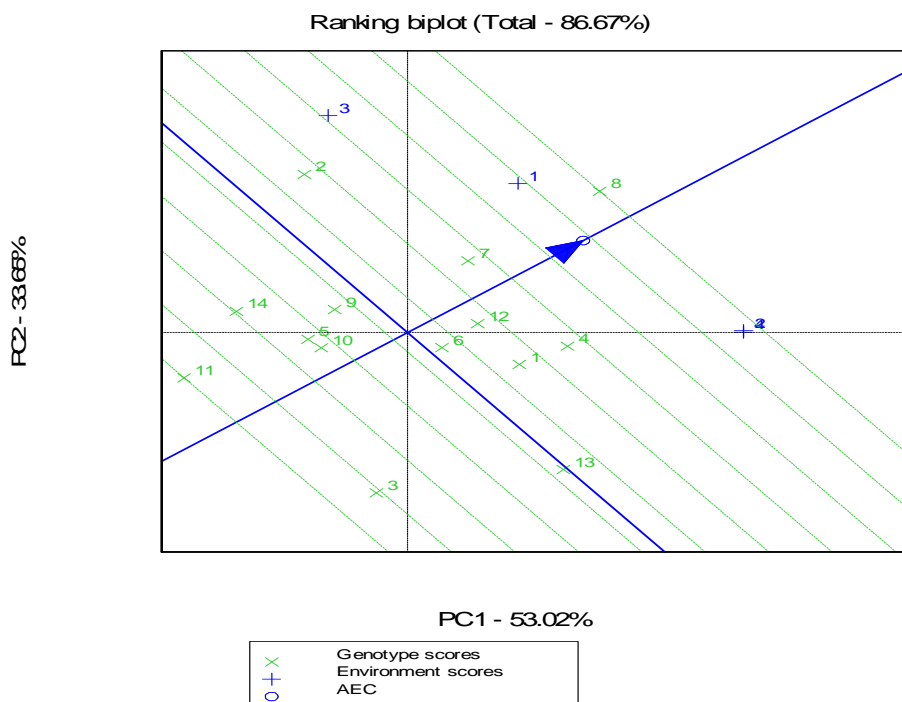
شکل ۶. بای‌پلات متوسط عملکرد روغن ژنوتیپ‌ها در مقابل مقادیر IPCA2

این تحقیق، ژنوتیپ‌های SLM-046 به دلیل مجاورت با لاین ACE، ژنوتیپ‌های پایدار بودند. برای استفاده از ژنوتیپ ایده‌آل به عنوان مرجع ارزیابی، دایره‌های متحدالمرکزی در دو پلات ایجاد شده‌اند تا به صورت گرافیکی فاصله بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه و ژنوتیپ ایده‌آل مشخص شود (شکل ۸).

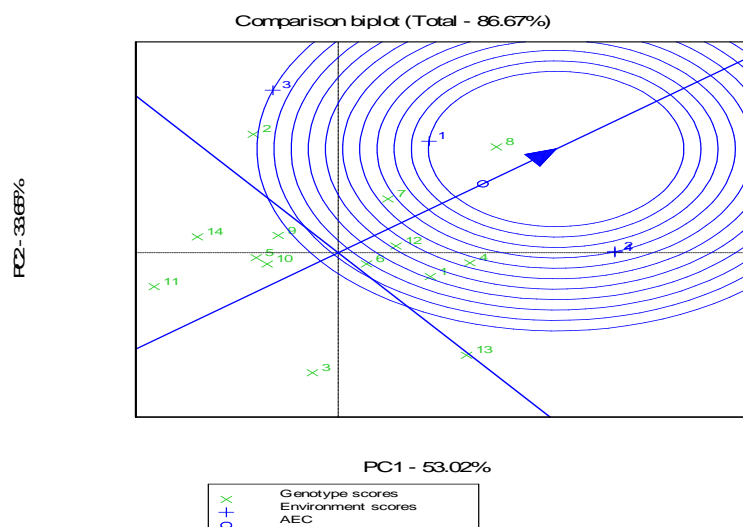
دایره کوچک در شکل ۸ که در محور افقی ACE قرار دارد و با فلش نشان داده شده است نشان دهنده شکل ایده‌آل است که با دو معیار تعریف می‌شود: (۱) داشتن بالاترین عملکرد در محیط‌ها بررسی شده است و (۲) آن نسبت به شرایط محیطی کاملاً پایدار است زیرا روی محور افقی ACE قرار می‌گیرند.



شکل ۶. نمایش گرافیکی GGE بای پلات جهت تعیین برتری کدام ژنوتیپ(ها) در کدام محیط(ها) برای ژنوتیپ‌های کلزا



شکل ۷. خط متوسط عملکرد محیطی در مقایسه ژنوتیپ‌های مورد بررسی بر اساس عملکرد روغن و پایداری در چهار محیط آزمایشی



شکل ۸. ارزیابی ژنوتیپ مورد بررسی نسبت به ژنوتیپ ایده‌آل در چهار محیط مورد آزمایش بر اساس عملکرد روغن

نتایج نشان داد که ژنوتیپ‌های Dante و SLM-046 در یک گروه و بقیه ژنوتیپ‌ها در گروه دوم قرار گرفتند. صفات اندازه‌گیری شده در کشت کالوس نشان داد که ژنوتیپ Dante در گروه جداگانه‌ای قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس AMMI نیز وجود تنوع بالایی را برای صفت عملکرد روغن در بین ژنوتیپ‌ها نشان داد که نشان‌دهنده اثر متقابل معنی‌دار برای ژنوتیپ‌ها در مکان‌های مختلف محیطی بود. نتایج تجزیه به مولفه‌های اصلی نشان داد که دو مولفه اول ۵۳/۰۲ و ۳۳/۶۵ درصد از واریانس اثر متقابل را برای روغن عملکرد تبیین کردند. بر اساس بای‌پلات میانگین عملکرد ژنوتیپ‌ها در برابر مقادیر IPCA1، ژنوتیپ‌های Dante و SLM-046 دارای مقادیر IPCA1 نزدیک به صفر بوده و از ثبات عملکردی و سازگاری عمومی خوبی برخوردار بودند، در حالی که ژنوتیپ‌های ARC5 دارای بالاترین مقادیر منفی IPCA1 و به عنوان ژنوتیپ ناپایدار شناسایی شد. همچنین پیشنهاد می‌شود که ژنوتیپ‌های دارای رشد نسبی پایین و حساس به خشکی در مطالعات فیزیولوژیک و ژنتیکی تحمل خشکی به عنوان شاهد مورد استفاده قرار گیرند. مطالعات فیزیولوژیک و ژنتیکی بیشتری در رابطه با ژنوتیپ‌های متحمل توصیه می‌گردد. ژنوتیپ‌های معرفی شده در برنامه‌های به‌نژادی آینده کلزا، در شرایط مزرعه یا آزمایشگاه برای بررسی تحمل خشکی به کار گرفته شود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از همه‌ی عزیزانی که در اتمام این گزارش همکاری نمودند و به ویژه دانشگاه رازی کرمانشاه بخاطر فراهم نمودن امکانات انجام این تحقیق تقدیر و تشکر می‌گردد.

دایره‌های متحدالمرکز، با ژنوتیپ ایده‌آل در مرکز، به تجسم فاصله بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه و رقم ایده‌آل کمک می‌کند. بر این اساس، ژنوتیپ‌های شماره صحرا، دانته و اوپرا نزدیک‌ترین ژنوتیپ به ژنوتیپ ایده‌آل بودند و از همه ژنوتیپ‌ها مطلوب‌تر بودند. از طرفی ژنوتیپ‌های ARC2 و Licord (شاهد حساس) به‌عنوان نامطلوب‌ترین ژنوتیپ‌ها تعیین شدند، زیرا بیشترین فاصله را از رقم ایده‌آل داشتند (SLM-046).

نتیجه‌گیری و پیشنهادها

در مطالعه حاضر ارقامی که دارای پایین‌ترین رشد نسبی کالوس در محیط کشت تنش خشکی بودند را می‌توان به عنوان کم تحمل‌ترین ارقام نسبت به خشکی در سطح سلولی دسته‌بندی نمود. از معیار سرعت رشد کالوس و رشد نسبی کالوس برای ارزیابی واکنش کالوس نسبت به خشکی در محیط درون شیشه‌ای استفاده شد و چنین نتیجه‌گیری شد که معیار سرعت رشد کالوس و رشد نسبی کالوس چون بر اساس وزن تر کالوس محاسبه می‌گردند صفت کمی محسوب می‌شوند و نتایج حاصل از آنها به واقعیت نزدیک‌تر است. در کل، تنوع زیادی که بین ژنوتیپ‌های کلزا از لحاظ سرعت رشد و رشد نسبی کالوس در سطوح مختلف خشکی مشاهده شد، ممکن است مربوط به توانایی متفاوت آنها در جذب رطوبت و جلوگیری از ورود عناصر مضر به داخل سلول باشد، زیرا رشد کالوس تحت تأثیر میزان جذب آب و همچنین ورود یون‌هایی که در غلظت‌های زیاد برای سلول سمی هستند و در محیط کشت وجود دارند، قرار می‌گیرد. بر اساس نتایج آنالیز خوشه‌ای همراه با نقشه حرارتی بر اساس صفات اندازه‌گیری شده در آزمون کشت کالوس در سطوح مختلف تنش

References

- Al-Khayri, J. M., & Al-Bahrany, A. M. (2004). Growth, water content, and proline accumulation in drought-stressed callus of date palm. *Biologia Plantarum*, 48(1), 105-108.
- Agahi, K., Ahmadi, J., Oghan, H. A., Fotokian, M. H., & Orang, S. F. (2020). Analysis of genotype× environment interaction for seed yield in spring oilseed rape using the AMMI model. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 20, e26502012.
- Annicchiarico P. (1997). Joint regression vs AMMI analysis of genotype-environment interactions for cereals in Italy. *Euphytica*, 94: 53-62.
- Araus, J. L., Slafer, G. A., Reynolds, M. P., & Royo, C. (2002). Plant breeding and drought in C3 cereals: what should we breed for?. *Annals of botany*, 89(7), 925-940.
- Chaghakaboodi, Z., Kakaei, M., Zebarjadi, A., Kahrizi, D., & Karatas, A. (2021). Biplot Analysis of Genotype-Environment Interaction in Rapeseed (*Brassica napus* L.) in Two Normal and Stress Condition Using the AMMI Model. *Desert*, 26(2), 279-285.
- Clarke, J. M., DePauw, R. M., & Townley-Smith, T. F. (1992). Evaluation of methods for quantification of drought tolerance in wheat. *Crop Science*, 32(3), 723-728.
- Crossa, J. (1990). Statistical analyses of multilocation trials. *Advances in agronomy*, 44, 55-85.
- Eberhart, S. T., & Russell, W. A. (1966). Stability parameters for comparing varieties 1. *Crop science*, 6(1), 36-40.
- Gauch, H. G., & Kang, M. S. (1996). *Genotype by environment interaction*. CRC Press.
- Ghasemi, S. H., Mostafavi, K., Khosroshahi, M., & Ramshini, H. (2021). Investigation of Grain yield Stability in Canola (*Brassica napus* L.) Cultivars using GGE-biplot Method. *Journal of Crop Breeding*, 13(40), 11-20.
- Ghasempour, H. R., Zebarjadi, A.R., & Borjjan, L. (2008). Molecular aspects of drought tolerance in five genotypes of *Brassica napus*, evaluated with callus cultures under stress. In XVI Congress of the Federation of European Societies of Plant Biology (pp. 105-108).
- Haj Sghaier, A., Tarnawa, A., Khaeim, H., Kovács, G. P., Gyuricza, C., & Kende, Z. (2022). The Effects of Temperature and Water on the Seed Germination and Seedling Development of Rapeseed (*Brassica napus* L.). *Plants*, 11(21), 2819.
- Kahrizi, D.A., Arminians. and Masoumiasl. A. (2007). plant breeding in laboratory conditions. Razi University Press. (In-persian)
- Kakaei, M., Zebarjadi, A., Mostafaie, A., & Rezaeizad, A. (2013). Genetic variation and traits interrelationship in some rapeseed genotypes using multivariate techniques under two moisture conditions. *Journal of Applied Crop Breeding*, 2 (1), 31-45. (In-persian)
- Kakaei, M., Zebarjadi, A., Mostafaie, A., & Rezaeizad, A. (2014). Genetic variation and traits interrelationship in some rapeseed genotypes using multivariate techniques under two moisture conditions. *Applied Crop Breeding*, 2(1), 31-45.
- Kakaei, M., Hajmoradi, F., Mansouri, M., & ebrahimi, M.A. (2023). The Role of Growth Regulators in Optimization of Callus Production in Medicinal Plant of Red Rubin Basil (*Ocimum basilicum* L.). *Applied Biology*, 36 (2), 75.
- Kaya, Y., Akçura, M., & Taner, S. (2006). GGE-biplot analysis of multi-environment yield trials in bread wheat. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 30(5), 325-337.
- Kuzmanović, B., Petrović, S., Nagl, N., Mladenov, V., Grahovac, N., Zanetti, F., & Jeromela, A. M. (2021). Yield-related traits of 20 spring camelina genotypes grown in a multi-environment study in Serbia. *Agronomy*, 11(5), 858.
- Marjanović-Jeromela, A., Nagl, N., Gvozdanović-Varga, J., Hristov, N., Kondić-Špika, A., & Marinković, M. V. R. (2011). Genotype by environment interaction for seed yield per plant in rapeseed using AMMI model. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46, 174-181.
- Olivoto, T., Lúcio, A. D., da Silva, J. A., Marchioro, V. S., de Souza, V. Q., & Jost, E. (2019). Mean performance and stability in multi-environment trials I: combining features of AMMI and BLUP techniques. *Agronomy Journal*, 111(6), 2949-2960.
- Pullman, M. and D. sleeper (1378). Cultivation of crop plants translated by Ahmad Arzani. Publishing Center of Isfahan University of Technology (In-persian).
- Pour-Aboughadareh, A., Khalili, M., Poczai, P., & Olivoto, T. (2022). Stability indices to deciphering the genotype-by-environment interaction (GEI) effect: An applicable review for use in plant breeding programs. *Plants*, 11(3), 414.
- Sengbuch, V.P. (1998). Cultures of meristems and calli. Springer-verlag. 251-255.

- Sivamani, E., Bahieldin, A., Wraith, J. M., Al-Niemi, T., Dyer, W. E., Ho, T. H. D., & Qu, R. (2000). Improved biomass productivity and water use efficiency under water deficit conditions in transgenic wheat constitutively expressing the barley HVA1 gene. *Plant science*, 155(1), 1-9.
- Seyni, B., Abdoua, Y., & Sitou, L. (2017). Seed yield stability and analysis of genotype x environment interaction of sesame genotypes in central south of Niger. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 34(3), 5535-5547.
- Stevanato, P., De Biaggi, M., Broccanello, C., Biancardi, E., & Saccomani, M. (2015). Molecular genotyping of "Rizor" and "Holly" rhizomania resistances in sugar beet. *Euphytica*, 206, 427-431.
- Vaezi, B., Pour-Aboughadareh, A., Mohammadi, R., Mehraban, A., Hossein-Pour, T., Koohkan, E., & Siddique, K. H. (2019). Integrating different stability models to investigate genotype× environment interactions and identify stable and high-yielding barley genotypes. *Euphytica*, 215, 1-18.
- Yang, R. C., Crossa, J., Cornelius, P. L., & Burgueño, J. (2009). Biplot analysis of genotype× environment interaction: Proceed with caution. *Crop Science*, 49(5), 1564-1576.
- Zobel R.W., Wright M.G., Gauch H.G. (1988). Statistical analysis of yield trial. *Agronomy Journal*, 80: 388-393.
- Zebarjadi A., Kakaei, M., & Mostafaie, A. (2011). Genetic variability of some traits in Rapeseed (*Brassica napus* L.) under drought stress and non-stress conditions. *Biharean Biologist*, 5 (2), 127-131.